

REC'D 09 FEB 2000  
PCT/CN 00/00010

WIPO PCT

CN 00/10 4 证明 09/913322

本证明之附件是向本局提交的下列专利申请副本

申 请 日: 99 02 11

申 请 号: 99 1 00721.2

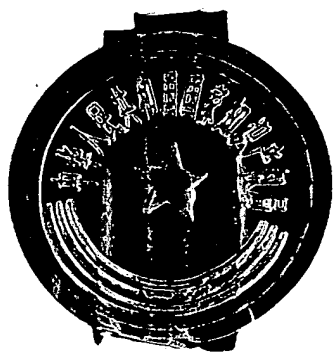
申 请 类 别: 发 明

发 明 创 造 名 称: 一种新皂甙化合物及其制备方法和用途

发明人或设计人: 叶文才 戴 岳 丛晓东

朱兴祥 赵守训

申 请 人: 山东绿叶制药股份有限公司

PRIORITY  
DOCUMENTSUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

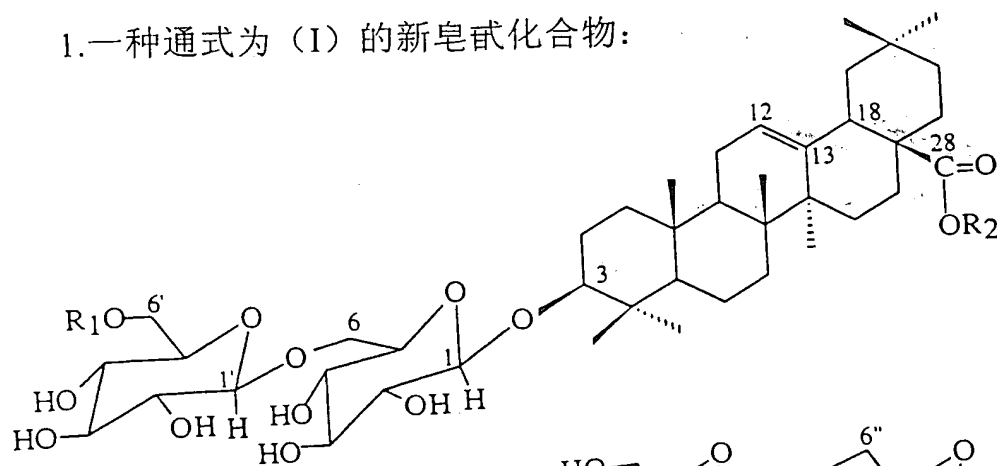
中 华 人 民 共 和 国

国家知识产权局局长

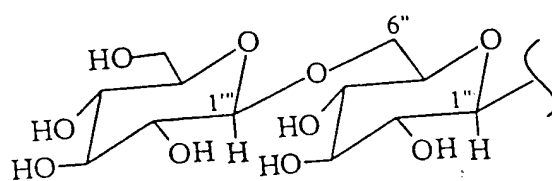
姜颖

2000 年 01 月 24 日

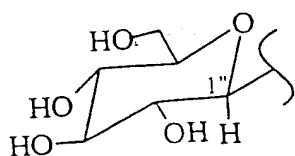
1. 一种通式为 (I) 的新皂甙化合物:



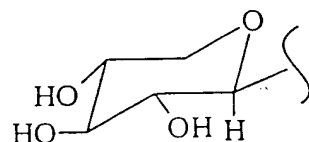
其中当  $R_1$  为氢原子时,  $R_2$  为



或

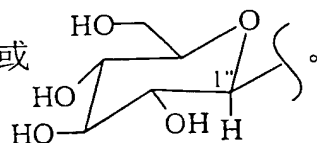


; 当  $R_1$  为



时,

$R_2$  为氢原子或



2. 权利要求 1 的新皂甙化合物的制备方法, 包括下列步骤:

a) 匙羹藤干叶, 粉碎, 用 60—95% 的乙醇回流提取三次, 每次 2 小时, 合并提取液, 减压回收至无醇味, 得到浓缩液, 备用;

b) 把所得到的浓缩液用环己烷萃取 3—6 次, 然后再用正丁醇萃取, 把正丁醇部分减压回收至干浸膏, 备用;

c) 将步骤 b) 得到的干浸膏中拌入粗硅胶, 处理后待上柱; 使用硅胶 H 的薄层层析分离, 用氯仿—甲醇比例为 90: 10—50: 50 的混合液在样品上样后加压柱层析, 分别得到式 (I) 的新皂甙化合物。

3. 权利要求 1 的新皂甙化合物在制备药物方面的用途。

4. 根据权利要求 3, 其中所述的药物具有降糖、降脂或抗血小板聚集的功效。

5. 根据权利要求 3, 其中所述的药物能够治疗糖尿病。

# 一种新皂甙化合物及其制备方法和用途

本发明涉及一种新皂甙化合物，该化合物具有降糖、降脂和抗血小板凝聚作用，本发明还涉及该化合物的制备方法及其用途，尤其是在制备治疗糖尿病药物方面的用途。

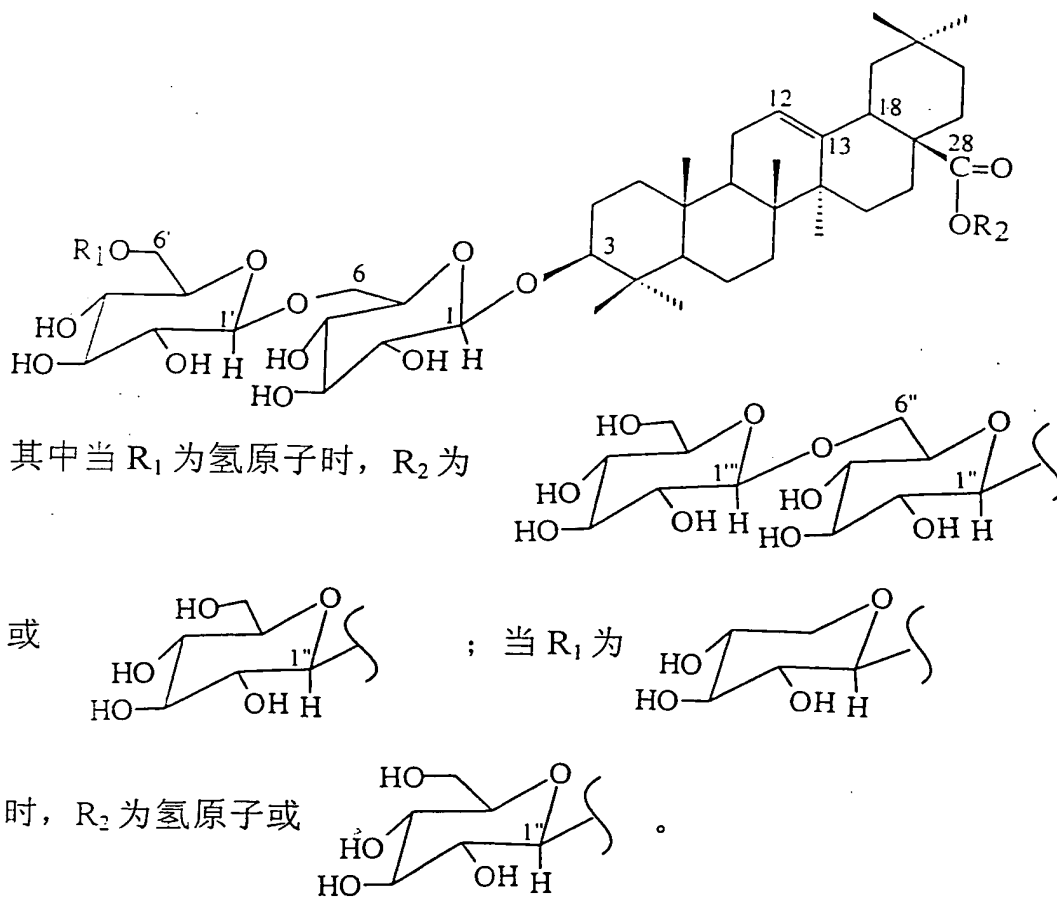
匙羹藤为萝藦科植物 *Gymnema sylvestre* R. Br. 由于它在印度民间用来抗肿毒、蛇伤、解疟、利尿和降血糖等，所以人们对它所含的成分进行了许多研究和报导，发现其中所含的匙羹藤酸具有降糖活性。发明人在前人研究的基础上进一步研究，发现在匙羹藤中还有一种新皂甙化合物，到目前为止，尚没有发现有文献报导。这种新皂甙化合物也具有降糖活性。

本发明的目的是提供一种新皂甙化合物。

本发明的另一目的是提供该皂甙化合物的制备方法。

本发明的又一目的是提供该皂甙化合物的用途。

本发明所述的新皂甙化合物具有下列通式 (I)：

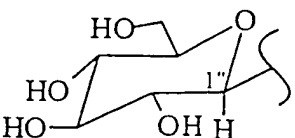


本发明新皂甙化合物可通过下列方法得到:

a) 匙羹藤干叶, 粉碎, 用 60—95% 的乙醇回流提取 3 次, 每次 2 小时, 合并提取液, 减压回收至无醇味, 得到浓缩液, 备用;

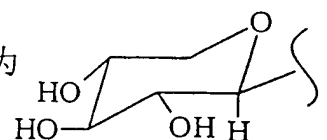
b) 把所得到的浓缩液用环己烷萃取 3—6 次, 然后再用正丁醇萃取, 把正丁醇部分减压回收至干浸膏, 备用;

c) 将步骤 b) 得到的干浸膏中拌入粗硅胶, 处理后待上柱; 使用硅胶 H 的薄层层析分离, 用氯仿—甲醇比例为 90: 10—50: 50 的混合液在样品上样后加压柱层析, 分别得到式 (I) 的新皂甙化合物。

其中当  $R_1$  为氢原子并且  $R_2$  为  时, 这种新皂

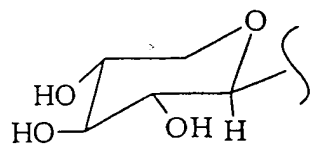
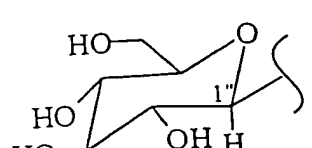
甙化合物 (下称化合物 A) 具有下列理化数据:

无定形粉末; mp 206-209°C;  $[\alpha]_{20}^D -16.0^\circ$  (c 0.11, MeOH); IR  $\nu_{\max}$  3424 (OH), 1735 (COOR), 1636 (C=C), 1457, 1034  $\text{cm}^{-1}$ ,  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, pyridine- $d_5$ )  $\delta$  0.82 (3H, s, Me), 0.87 (3H, s, Me), 0.91 (3H, s, Me), 0.97 (3H, s, Me), 1.07 (3H, s, Me), 1.20 (3H, s, Me), 1.23 (3H, s, Me), 3.17 (1H, dd,  $J=3.5$  和 10.2Hz, H-18), 3.30 (1H, dd,  $J=3.9$  和 11.7Hz, H-3 $\alpha$ ), 5.37 (1H, br s, H-12);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, pyridine- $d_5$ ) 见表 1 与表 2; FABMS  $m/z$  943  $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

当  $R_1$  为 ,  $R_2$  为氢原子时, 这种新皂甙化合物

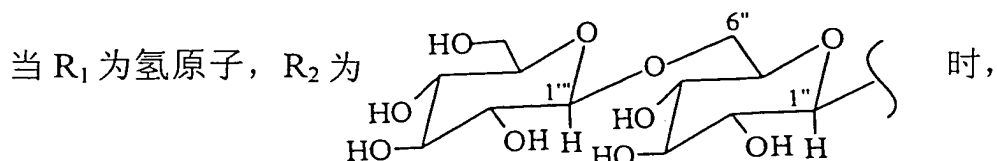
(下称化合物 B) 具有下列理化数据:

无定形粉末; mp 202-204°C;  $[\alpha]_{20}^D -3.2^\circ$  (c 0.15, MeOH); IR  $\nu_{\max}$  3410 (OH), 1710 (COOH), 1638 (C=C), 1458, 1036  $\text{cm}^{-1}$ ,  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, pyridine- $d_5$ )  $\delta$  0.87 (3H, s, Me), 0.91 (3H, s, Me), 0.96 (3H, s, Me), 1.02 (3H, s, Me), 1.10 (3H, s, Me), 1.24 (3H, s, Me), 1.29 (3H, s, Me), 3.30 (1H, dd,  $J=4.5$  和 11.5Hz, H-3 $\alpha$ ), 5.38 (1H, br s, H-12);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, pyridine- $d_5$ ) 见表 1 与表 2; FABMS  $m/z$  935  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。

当  $R_1$  为 ,  $R_2$  为  时,

这种新皂甙化合物（下称化合物 C）具有下列理化数据：

无定形粉末；mp 212-215℃； $[\alpha]_{20}^D$  -9.6° (c 0.20, MeOH)；  
IR  $\nu_{\max}$  3414 (OH)，1740 (COOR)，1636 (C=C)，1460, 1364, 1044, 896 $\text{cm}^{-1}$ ， $^1\text{H}$  NMR (500MHz, pyridine- $d_5$ )  $\delta$  0.85 (3H, s, Me)，0.90 (3H, s, Me)，0.94 (3H, s, Me)，1.00 (3H, s, Me)，3.19 (1H, dd,  $J=4.0$  和 13.7Hz, H-18)，3.32 (1H, dd,  $J=4.4$  和 11.7Hz, H-3 $\alpha$ )，5.40 (1H, br s, H-12)； $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz, pyridine- $d_5$ ) 见表 1 与表 2；FABMS  $m/z$  1097 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。



这种新皂甙化合物（下称化合物 D）具有下列理化数据：

无定形粉末；mp 209-211℃； $[\alpha]_{20}^D$  -12.1° (c 0.12, MeOH)；  
IR  $\nu_{\max}$  3424 (OH)，1734 (COOR)，1636 (C=C)，1458, 1074 $\text{cm}^{-1}$ ， $^1\text{H}$  NMR (500MHz, pyridine- $d_5$ )  $\delta$  0.87 (3H, s, Me)，0.90 (3H, s, Me)，0.92 (3H, s, Me)，1.00 (3H, s, Me)，1.09 (3H, s, Me)，1.22 (3H, s, Me)，1.26 (3H, s, Me)，3.20 (1H, dd,  $J=3.5$  和 13.6Hz, H-18)，3.33 (1H, dd,  $J=4.4$  和 11.5Hz, H-3 $\alpha$ )，5.39 (1H, br s, H-12)； $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz, pyridine- $d_5$ ) 见表 1 与表 2；FABMS  $m/z$  1127 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。

表 1: 化合物 A-D 的糖甙配基部分的  $^{13}\text{C}$  NMR 的数据

碳原子	化合物 A	化合物 B	化合物 C	化合物 D
1	38.8	38.7	38.7	38.7
2	26.6	26.7	26.7	26.7
3	88.9	89.0	89.0	89.0
4	39.4	39.5	39.5	39.5
5	55.7	55.8	55.8	55.8
6	18.4	18.3	18.5	18.5
7	33.0	33.1	33.1	33.1
8	39.8	39.9	39.9	39.9
9	47.9	48.0	48.0	48.0
10	36.9	37.0	37.0	37.0
11	23.7	23.7	23.8	23.7
12	122.9	122.8	123.0	122.9

13	144.0	144.4	144.0	144.1
14	42.0	42.1	42.1	42.1
15	28.2	28.2	28.2	28.2
16	23.3	23.4	23.4	23.4
17	46.9	46.5	47.0	47.0
18	41.6	41.9	41.7	41.7
19	46.2	46.1	46.2	46.3
20	30.7	30.9	30.8	30.8
21	33.9	34.4	34.0	34.0
22	32.5	33.1	32.5	32.5
23	28.1	28.2	28.2	28.3
24	17.0	17.0	17.0	17.0
25	15.5	15.8	15.6	15.6
26	17.4	17.3	17.5	17.5
27	26.0	26.1	26.1	26.1
28	<b>176.4</b>	<b>180.2</b>	<b>176.5</b>	<b>176.5</b>
29	33.1	33.2	33.2	33.2
30	23.6	23.7	23.7	23.7

表 2: 化合物 A-D 的糖部分的  $^{13}\text{C}$  NMR 数据

C-3	化合物 A	化合物 B	化合物 C	化合物 D
Glc 1	106.9	107.0	107.0	106.9
Glc 2	75.1	75.0	75.0	75.2
Glc 3	78.4	78.3	78.3	78.4
Glc 4	71.6	71.5	71.5	71.5
Glc 5	77.0	77.0	77.0	77.0
Glc 6	<b>70.4</b>	<b>70.4</b>	<b>70.4</b>	<b>70.5</b>
Glc' 1	105.4	105.4	105.4	105.4
Glc' 2	75.5	75.6	75.6	75.6
Glc' 3	78.5	78.5	78.5	78.6
Glc' 4	71.7	71.6	71.6	71.7
Glc' 5	78.4	76.9	76.9	78.5
Glc' 6	62.7	<b>69.8</b>	<b>69.8</b>	62.6
Xyl 1		106.0	106.0	
Xyl 2		74.9	74.9	

Xyl 3		78.0	78.1	
Xyl 4		71.1	71.1	
Xyl 5		67.0	67.1	
C-28				
Glc'' 1	95.7		95.8	95.7
Glc'' 2	74.1		74.1	73.9
Glc'' 3	78.8		78.9	78.7
Glc'' 4	71.0		71.1	70.9
Glc'' 5	79.3		79.3	78.0
Glc'' 6	62.1		62.2	69.3
Glc''' 1				105.3
Glc''' 2				75.2
Glc''' 3				78.5
Glc''' 4				71.7
Glc''' 5				78.4
Glc''' 6				62.7

试验证明, 含有通式 (I) 的新皂甙化合物具有降糖、降脂和抗血小板凝聚的作用。

以下通过实施例和试验例对本发明新皂甙化合物作详细说明。

#### 实施例 1

匙羹藤叶粗粉 1000g, 用 75% 的乙醇回流提取三次, 每次体积为 6.0L, 时间各 2 小时, 合并乙醇提取液, 把该乙醇提取液减压回收至无醇味, 把浓缩液用 0.5L 的环己烷丁醇萃取 3 次, 合并正丁醇萃取液, 减压回收, 得到干浸膏状物 72.0g。取 36.0g 干浸膏状物, 拌入 60—100 目的粗硅胶 60g, 用水浴锅蒸发至干, 待上样。用 400g 薄层层析用的 200—400 目的硅胶 H, 湿法装柱, 样品上样后, 用 90:10-50:50 的氯仿—甲醇混合液进行加压柱层析, 分别得到新皂甙化合物 A (130mg)、化合物 B (115mg)、化合物 C (160mg) 和化合物 D (195mg)。

# 本发明新皂甙化合物对小鼠血糖升高的影响

雄性昆明种小鼠，随机分成实验组，分别口服本发明新皂甙化合物 50, 100, 200mg/kg，阳性对照组分别口服优降糖 50mg/kg，空白对照组及正常对照组口服等量蒸馏水，给药体积为 20ml/kg，连续 7 天，末次给药前禁食 10h，除正常对照组外，各组口服给予葡萄糖溶液 2.5g/kg(10ml/kg)，分别于葡萄糖前和葡萄糖后 30min，由眼眶采血 100ul，按葡萄糖氧化酶法，测定血清中的葡萄糖含量。

结果，小鼠口服葡萄糖 30min，血糖明显升高，本发明新皂甙化合物 100, 200mg/kg 及优降糖 50mg/kg 均显著抑制小鼠血糖升高，本发明新皂甙化合物 200mg/kg 的降糖作用与优降糖 50mg/kg 相近，见下表 3。

表 3

组别	剂量 (mg/kg)	血糖值 (mmol/L)	
		0 (min)	30 (min)
正常组		6.20±1.01	6.64±1.04
对照组		6.55±1.16	13.94±3.22 <sup>△△</sup>
本发明新皂甙化合物	50	6.79±1.16	12.01±1.88
	100	6.09±1.34	9.59±2.25**
	200	6.42±0.99	9.16±1.08**
优降糖	50	4.48±0.83**	8.18±1.72**

<sup>△△</sup>P<0.01，与正常组比较；\*\*P<0.01，与对照组比较。

## 试验例 2

本发明新皂甙化合物对高脂血症大鼠血清甘油三酯、胆固醇含量的影响

雄性 SD 大鼠，体重 130-170g，正常组给予普通饲料，其它各组给予高脂饲料（1%胆固醇、10%猪油、0.3%胆酸、0.2%甲硫基咪唑



88.5%普通饲料，自制成块状饲料)。连续 14 天，大鼠禁食 12 小时后，按试剂盒法测定大鼠血清甘油三酯及胆固醇含量，然后，按血脂值进行随机分组。实验组口服给予 50、100、200mg/kg，阳性对照组分列口服安妥明 100mg/kg，对照组给予蒸馏水，给药体积为 10ml/kg，连续 10 天，各组在给药前 5 天仍饲以高脂饲料，后 5 天饲以普通饲料，末次给药前禁食 11 小时，给药后 1 小时采血测血清中甘油三酯及胆固醇含量。

结果，大鼠给予高脂饲料 10 天后，血清甘油三酯及胆固醇含量明显升高，本发明新皂甙化合物 50、100、200mg/kg 及安妥明 100mg/kg 均使高脂血症大鼠血清甘油三酯及胆固醇水平明显下降，本发明新皂甙化合物 200mg/kg 的降血脂作用与安妥明 100mg/kg 相近，见表 4。

表 4: 本发明化合物对高脂血症大鼠血脂含量的影响 ( $\bar{X} \pm SD$ , n=9-10)

组别	剂量 (mg/kg)	甘油三酯 (mmol/L)		总胆固醇 (mmol/L)	
		给药前	给药后	给药前	给药后
正常组		1.02±0.22	1.04±0.15	2.43±0.41	1.99±0.47
对照组		2.64±0.82	3.04±0.93	4.10±0.51 <sup>△△</sup>	4.77±0.63 <sup>△△</sup>
本发明	50	2.72±0.61	2.41±0.44	4.29±0.60	3.92±0.58 <sup>**</sup>
新皂甙	100	2.54±0.90	1.75±0.53 <sup>**</sup>	4.02±0.59	2.94±0.66 <sup>**</sup>
化合物	200	2.72±0.76	1.37±0.40 <sup>**</sup>	4.18±0.61	2.31±0.74 <sup>**</sup>
安妥明	100	2.51±0.77	2.72±0.74	4.33±0.51	2.15±0.76 <sup>**</sup>

<sup>△△</sup>P<0.01，与正常组比较；<sup>\*\*</sup>P<0.01，与对照组比较

### 试验例 3

本发明新皂甙化合物对体外家兔血小板聚集的影响

家兔心脏穿刺取血，3.8%枸橼酸钾抗凝 (1: 9) 1000rpm 离心 5min，取上层作为富血小板血浆 (PRP)，再以 4000rpm 离心 10min，上清液为贫血小板血浆 (PPP)。将终浓度分别为 250, 500, 1000 ug/ml，阳性对照管加入阿斯匹林生理盐水溶液 10ul，终浓度为 250 ug/ml，空白对照管加入生理盐水 10ul，终浓度为  $1.0 \times 10^{-5}M$ ，在 PAM-1 型血小板聚集仪上观察 3min 内的最大聚集率。

结果，本发明新皂甙化合物 500, 1000ug/ml，阿斯匹林 250ug/ml 显著抑制家兔血小板聚集，结果见表 5。

表 5: 本发明新皂甙化合物对体外家兔血小板聚集的影响 ( $X \pm SD$ ,  $n=8$ )

组别	终浓度 (ug/ml)	最大聚集率 (%)	抑制率 (%)
对照组		$47.9 \pm 5.2$	
	250	$43.6 \pm 7.0$	9.0
	500	$35.9 \pm 4.5^{**}$	25.1
	1000	$27.8 \pm 4.8^{**}$	42.0
阿斯匹林	250	$23.7 \pm 6.0^{**}$	50.3

$^{**}P < 0.01$ , 与对照组比较。

REC'D 09 FEB 2000

PCT/CN00/00010  
WIPO PCT

CN00/10

4

## 证 明

09/913322

本证明之附件是向本局提交的下列专利申请副本

申 请 日: 99 02 11

申 请 号: 99 1 00722.0

申 请 类 别: 发 明

发 明 创 造 名 称: 一种新皂甙化合物及其制备方法和用途

发 明 人 或 设 计 人: 叶文才 戴 岳 朱兴祥

丛晓东 赵守训

申 请 人: 山东绿叶制药股份有限公司

PRIORITY  
DOCUMENTSUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

中 华 人 民 共 和 国

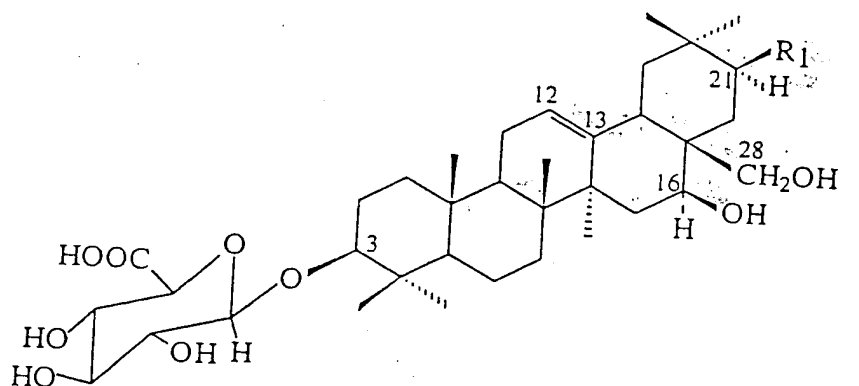
国 家 知 识 产 权 局 局 长

姜 颖

2000 年 01 月 24 日

# 权 利 要 求 书

1. 一种通式为 (I) 的新皂甙化合物:



其中  $R_1 = H$  或  $-\text{O}-\text{C}(=\text{O})-\text{C}_6\text{H}_4$ 。

2. 权利要求 1 的新皂甙化合物的制备方法, 它包括下列步骤:

a) 匙羹藤干叶, 粉碎, 用 60—95% 的乙醇回流提取 3 次, 每次 2 小时, 合并提取液, 减压回收至无醇味, 得到浓缩液, 备用;

b) 把所得到的浓缩液用环己烷萃取 3—6 次, 然后再用正丁醇萃取, 把正丁醇部分减压回收至干浸膏, 备用;

c) 将步骤 b) 得到的干浸膏用硅胶柱层析分离, 以氯仿—甲醇比例为 90:10—60:40 的混合液洗脱, 得到式 (I) 的新皂甙化合物。

3. 权利要求 1 的新皂甙化合物在制备药物方面的用途。

4. 根据权利要求 3, 其中所述的药物具有降糖、降脂或抗血小板聚集的功效。

5. 根据权利要求 3, 其中所述的药物能够治疗糖尿病。

# 一种新皂甙化合物及其制备方法和用途

本发明涉及一种新皂甙化合物，本发明还涉及该化合物的制备方法和它的用途，尤其是将它制成用来治疗糖尿病的药物。

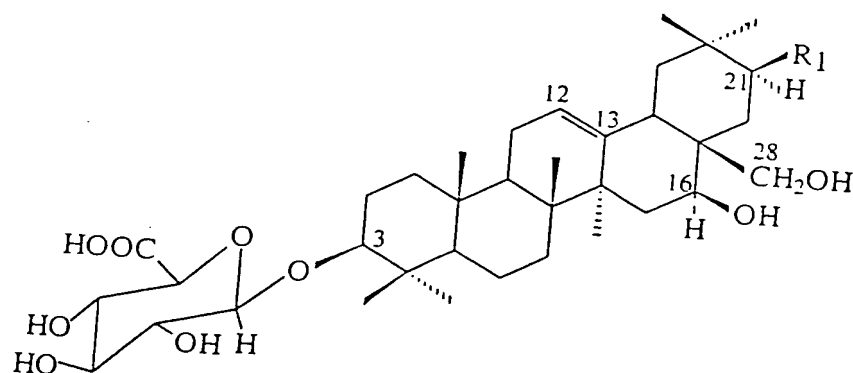
匙羹藤为萝藦科植物 *Gymnema sylvestre* R. Br.。由于它在印度民间用作抗肿毒、蛇伤、解疟、利尿和降血糖等，所以人们对它所含的成分进行了许多研究和报导，发现其中所含的匙羹藤酸具有降糖活性。发明人在前人的研究基础上进一步研究发现在匙羹藤中还有两种新皂甙化合物，到目前为止，尚没有发现有文献报导。这两种新皂甙化合物也具有降糖活性。

本发明的目的是提供一种新皂甙化合物。

本发明的另一目的是提供该皂甙化合物的制备方法。

本发明的又一目的是提供该皂甙化合物的用途。

本发明所述的新皂甙化合物具有下列通式 (I)：



其中  $R_1$  为氢原子或  $R_1 = -O-C(=O)-C_6H_4$ 。

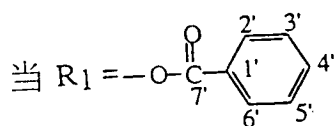
本发明新皂甙化合物可以通过下列方法得到：

- 匙羹藤干叶，粉碎，用 60—95% 的乙醇回流提取三次，每次 2 小时，合并提取液，减压回收至无醇味，得到浓缩液，备用；
- 把所得到的浓缩液用环己烷萃取 3—6 次，然后再用正丁醇萃取，把正丁醇部分减压回收至干浸膏，备用；
- 将步骤 b) 得到的干浸膏用硅胶柱层析分离，以氯仿—甲醇比例为 90: 10—60: 40 的混合液洗脱，得到两种无定形粉末即式 (I)

的新皂甙化合物。

其中当  $R_1$  为氢原子时, 这种新皂甙化合物 (下称化合物 A) 具有下列理化数据:

无定形粉末; mp 198-202°C;  $[\alpha]_{20}^D +16.0^\circ$  (c 0.10, MeOH); IR  $\nu_{\max}$  3414 (OH), 1724 (COOH), 1636 (C=C), 1458, 1380, 1054  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H}$  NMR (500MHz, pyridine- $d_5$ )  $\delta$  0.86 (3H, s, Me), 0.95 (3H, s, Me), 1.01 (9H, s, 3×Me), 1.32 (3H, s, Me), 1.39 (3H, s, Me), 3.39 (1H, dd,  $J=4.3$  和 11.8Hz, H-3 $\alpha$ ), 3.68 (1H, d,  $J=10.5\text{Hz}$ , H-28a), 4.43 (1H, d,  $J=10.5\text{Hz}$ , H-28b), 4.68 (1H, m, H-16 $\alpha$ ), 5.04 (1H, d,  $J=7.8\text{Hz}$ , 葡萄糖的 H-1), 5.26 (1H, br s, H-12);  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz, pyridine- $d_5$ ), 见表 1 和 2; FABMS  $m/z$  657 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。



时, 这种新皂甙化合物 (下称化合物 B) 具有下列理化数据:

无定形粉末; mp 192-195°C;  $[\alpha]_{20}^D +27.2^\circ$  (c 0.15, MeOH); IR  $\nu_{\max}$  3444 (OH), 1724, 1700, 1635 (C=C), 1457, 1388, 1280, 1074, 720  $\text{cm}^{-1}$ ;  $^1\text{H}$  NMR (500MHz, pyridine- $d_5$ )  $\delta$  0.98 (3H, s, Me), 1.01 (3H, s, Me), 1.02 (9H, s, 3×Me), 1.07 (3H, s, Me), 1.30 (3H, s, Me), 1.34 (3H, s, Me), 1.36 (3H, s, Me), 3.40 (1H, dd,  $J=4.5$  和 12.0Hz, H-3 $\alpha$ ), 3.70 (1H, d,  $J=10.2\text{Hz}$ , H-28a), 4.42 (1H, d,  $J=10.2\text{Hz}$ , H-28b), 4.70 (1H, m, H-16 $\alpha$ ), 5.10 (1H, d,  $J=7.8\text{Hz}$ , 葡萄糖的 H-1), 5.70 (1H, dd,  $J=4.7$  和 12.3Hz, H-21 $\alpha$ ), 7.47 (3H, 重叠, H-3', -4' 和 -5'), 8.25 (2H, dd,  $J=1.4$  和 4.8 Hz, H-2' 和 -6');  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz, pyridine- $d_5$ ), 见表 1 和 2; FABMS  $m/z$  777 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。

表 1: 化合物 A 和 B 的糖甙配基部分的  $^{13}\text{C}$  NMR 的数据

碳原子	化合物 A	化合物 B
1	38.8	38.8
2	26.6	26.6
3	89.0	89.0
4	39.5	39.6
5	55.7	55.7
6	18.4	18.4

7	32.9	33.0
8	40.1	40.1
9	47.1	47.1
10	36.7	36.7
11	23.8	23.9
12	122.6	123.1
13	143.9	142.6
14	43.8	43.7
15	36.7	36.8
16	66.6	66.4
17	41.1	43.8
18	44.4	44.2
19	47.1	47.2
20	31.1	36.0
21	34.3	75.6
22	26.2	33.3
23	28.2	28.2
24	16.9	16.9
25	15.7	15.7
26	17.0	17.0
27	27.2	27.0
28	68.9	66.8
29	33.4	29.2
30	24.1	18.8
酰基部分 1'		131.6
酰基部分 2'		129.9
酰基部分 3'		128.9
酰基部分 4'		133.2
酰基部分 5'		128.9
酰基部分 6'		129.9
酰基部分 7'		166.3

表 2 化合物 A 和 B 的糖部分的  $^{13}\text{C}$  NMR 的数据

C-3 的碳原子	化合物 A	化合物 B
谷氨酸 1	107.3	107.3
谷氨酸 2	75.6	75.6
谷氨酸 3	78.2	78.2
谷氨酸 4	73.5	73.6
谷氨酸 5	77.8	77.7
谷氨酸 6	173.1	173.3

经发明人试验证明含有通式 (I) 的新皂甙化合物降糖、降脂和抗血小板凝聚的活性作用。

以下通过实施例和试验例对本发明的新皂甙化合物作详细的说明。

#### 实施例 1

匙羹藤叶粗粉 1000g, 用 60% 的乙醇回流提取三次, 每次体积为 6.0 升, 时间各 2 小时, 合并乙醇提取液, 把该乙醇提取液减压回收至无醇味, 把浓缩液用 0.5L 的环己烷丁醇萃取三次, 合并正丁醇萃取液, 减压回收, 得到干浸膏状物 64.0g。取 32.0g 干浸膏状物, 拌入 60-100 目的粗硅胶 60g, 水浴锅上蒸发至干, 待上样。用 450g 200-300 目的硅胶, 湿法装柱, 然后加入处理好的样品, 进行柱层析, 用 90:10-60:40 的氯仿-甲醇混合液洗脱, 得到新皂甙化合物 A80mg 和新皂甙化合物 B60mg。

#### 试验例 1

本发明新皂甙化合物对蔗糖引起的大鼠血糖升高的影响

雌性 SD 大鼠, 禁食 24h, 随机分为实验组, 一次口服本发明新皂甙化合物 50, 100, 200mg/kg, 阳性对照组分别口服给予降糖灵 100mg/kg, 正常组及对照组及空白组口服等容量蒸馏水, 给药体积为 10mg/kg, 30min 后, 除正常组外, 各组口服蔗糖溶液 1g/kg (5ml/kg), 并分别于其后 30, 60, 120min, 由大鼠眼眶采血 100ul, 测定血清葡萄糖含量。

结果, 大鼠口服蔗糖后 30, 60min 内, 血糖值明显上升, 本发



新皂甙化合物 100mg/kg 在 30min, 本发明新皂甙化合物 200mg/kg 和降糖灵 100mg/kg 在 30, 60min 均使大鼠升高的血糖值显著下降, 且两者作用强度相近, 结果见表 3。

表 3: 本发明新皂甙化合物对蔗糖引起的大鼠血糖升高的影响  
( $\bar{X} \pm SD$ , n=10)

组别	剂量 (mg/kg)	血糖值 (mmol/L)		
		30min	60min	120min
正常组		3.56 $\pm$ 0.64	4.12 $\pm$ 0.72	3.76 $\pm$ 0.69
对照组		6.58 $\pm$ 0.87 $^{\Delta\Delta}$	5.93 $\pm$ 1.27 $^{\Delta\Delta}$	4.54 $\pm$ 1.37
本发明新皂 甙化合物	50	6.03 $\pm$ 0.86	6.42 $\pm$ 0.78	4.26 $\pm$ 1.03
	100	5.12 $\pm$ 1.29*	5.77 $\pm$ 1.09	4.53 $\pm$ 0.94
	200	4.43 $\pm$ 0.72**	4.73 $\pm$ 0.83**	4.07 $\pm$ 0.70
降糖灵	100	4.24 $\pm$ 0.87**	4.74 $\pm$ 0.90*	4.79 $\pm$ 1.03

$^{\Delta\Delta}P < 0.01$ , 于正常组比较; \*  $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , 与对照组比较。

## 试验例 2

本发明新皂甙化合物对高脂血症大鼠血清甘油三酯、胆固醇含量的影响

雄性 SD 大鼠, 体重 130-170g, 正常组给予普通饲料, 其它各组给予高脂饲料 (1%胆固醇、10%猪油、0.3%胆酸、0.2%甲硫基咪唑和 88.5%普通饲料, 自制成块状饲料)。连续 14 天, 大鼠禁食 12 小时后, 按试剂盒法测定大鼠血清甘油三酯及胆固醇含量, 然后, 按血脂值进行随机分组。实验组口服给予 50、100、200mg/kg, 阳性对照组分别口服安妥明 100mg/kg, 对照组给予蒸馏水, 给药体积为 10ml/kg, 连续 10 天, 各组在给药前 5 天仍饲以高脂饲料, 后 5 天饲以普通饲料, 末次给药前禁食 11 小时, 给药后 1 小时采血测血清中甘油三酯及胆固醇含量。

结果, 大鼠给予高脂饲料 10 天后, 血清甘油三酯及胆固醇含量明显升高, 本发明新皂甙化合物 50、100、200mg/kg 及安妥明 100mg/kg

使高脂血症大鼠血清甘油三酯及胆固醇水平明显下降, 本发明新皂甙化合物 200mg/kg 的降血脂作用与安妥明 100mg/kg 相近, 见表 4。

表 4: 本发明新皂甙化合物对高脂血症大鼠血脂含量的影响 ( $X \pm SD$ ,  $n=9-10$ )

组别	剂量 (mg/kg)	甘油三酯 (mmol/L)		总胆固醇 (mmol/L)	
		给药前	给药后	给药前	给药后
正常组		1.02 $\pm$ 0.22	1.04 $\pm$ 0.15	2.43 $\pm$ 0.41	1.99 $\pm$ 0.47
对照组		2.64 $\pm$ 0.82	3.04 $\pm$ 0.93	4.10 $\pm$ 0.51 <sup><math>\Delta\Delta</math></sup>	4.77 $\pm$ 0.63 <sup><math>\Delta\Delta</math></sup>
本发明 新皂甙 化合物	50	2.72 $\pm$ 0.61	2.41 $\pm$ 0.44	4.29 $\pm$ 0.60	3.92 $\pm$ 0.58 <sup>**</sup>
	100	2.54 $\pm$ 0.90	1.75 $\pm$ 0.53 <sup>**</sup>	4.02 $\pm$ 0.59	2.94 $\pm$ 0.66 <sup>**</sup>
	200	2.72 $\pm$ 0.76	1.37 $\pm$ 0.40 <sup>**</sup>	4.18 $\pm$ 0.61	2.31 $\pm$ 0.74 <sup>**</sup>
安妥明	100	2.51 $\pm$ 0.77	2.72 $\pm$ 0.74	4.33 $\pm$ 0.51	2.15 $\pm$ 0.76 <sup>**</sup>

<sup>$\Delta\Delta$</sup> P<0.01, 与正常组比较; <sup>\*\*</sup>P<0.01, 与对照组比较

### 实验例 3

本发明新皂甙化合物对体外家兔血小板聚集的影响

家兔心脏穿刺取血, 3.8%枸橼酸钾抗凝 (1: 9) 1000rpm 离心 5min, 取上层作为富血小板血浆 (PRP), 再以 4000rpm 离心 10min, 上清液为贫血小板血浆 (PPP)。将 PPP 200ul 移入比浊管, 再加入不同浓度的本发明新皂甙化合物生理盐水溶液 10ul, 终浓度分别为 250, 500, 1000ug/ml, 阳性对照管加入阿斯匹林生理盐水溶液 10ul, 终浓度为 250ug/ml, 空白对照管加入生理盐水 10ul, 37°C 温育 2min 后放入测定孔, 搅拌加入 ADP 钠盐生理盐水溶液 10ul, 终浓度为  $1.0 \times 10^{-5} M$ , 在 PAM-1 型血小板聚集仪上观察 3min 内的最大聚集率。

结果, 本发明新皂甙化合物 500, 1000ug/ml, 阿斯匹林 250ug/ml 显著抑制家兔血小板聚集。见表 5。

表 5: 本发明新皂甙化合物对体外家兔血小板聚集的影响 ( $X \pm SD$ ,  $n=8$ )

组别	终浓度 (ug/ml)	最大聚集率 (%)	抑制率 (%)
对照组		47.9 $\pm$ 5.2	

本发明新皂甙 化合物	250	43.6±7.0	9.0
	500	35.9±4.5**	25.1
	1000	27.8±4.8**	42.0
阿司匹林	250	23.7±6.0**	50.3

\*\*P<0.01, 与对照组比较。

